



⑮ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 197 05 233 A 1**

⑤① Int. Cl. 8:
A 61 K 31/195

②① Aktenzeichen: 197 05 233.9
②② Anmeldetag: 12. 2. 97
②③ Offenlegungstag: 13. 8. 98

⑦① Anmelder:
Frölich, Jürgen C., Prof. Dr.med., 30559 Hannover, DE

⑦① Vertreter:
Patentanwälte von Kreisler, Selting, Werner et col.,
50867 Köln

⑦② Erfinder:
Frölich, Jürgen C., Prof. Dr., 30559 Hannover, DE;
Böger, Rainer, Dr., 30880 Laatzen, DE

⑤⑥ Entgegenhaltungen:
DE 1 95 20 792 A1
DE 43 41 001 A1
DE 34 39 805 A1
WO 93 16 087 A1
Römpp Chemie Lexikon 9.Aufl., 1993, S.2605-2606;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Verfahren zur Herstellung einer Formulierung enthaltend Arginin

⑤⑦ Ein Verfahren zur Herstellung einer Formulierung, enthaltend Arginin, gesundheitlich unbedenkliche Salze des Arginins oder Prodrugs des Arginins und dessen unbedenkliche Salze, wobei
- eine Lösung von Arginin, gesundheitlich unbedenklichen Salzen des Arginins oder Prodrugs des Arginins und dessen unbedenkliche Salze und einem oder mehreren Zuckern solange erhöhter Temperatur ausgesetzt wird, bis sich eine leichte Gelbfärbung einstellt,
- wonach die Lösung abgekühlt wird und ggf. abgefüllt wird.

DE 197 05 233 A 1

DE 197 05 233 A 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer Formulierung enthaltend Arginin, die Formulierung sowie Verwendungen der Formulierung.

L-Arginin hat antiarteriosklerotische Eigenschaften, die bei der Behandlung von Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit, ischämischer Herzkrankheit, cerebraler Durchblutungsstörung mit oder ohne Tinnitus/Hörsturz, Morbus Raynaud oder Raynaud Syndrom, Impotentia coeundi oder Transplantation therapeutisch genutzt werden können und überwiegend über die Synthese von Stickstoffmonoxyd (NO) zustande kommen (Böger, R.H., Böcke-Böger, S.M., Frölich, J.C.: "The L-arginine-nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications". *Atherosclerosis* 127: 1-11, 1996). Um diese Wirkungen von L-Arginin zu erzielen, sind Dosierungen notwendig, die im Bereich von etwa 5 bis 20 g/Tag liegen (Böcke-Böger, S.M., Böger, R.H., Altknecht, H., Heinzel, D., Tsikas, D., Creutzig, A., Alexander, K., Frölich, J.C.: "L-arginine induces NO-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia: a randomized, controlled study", *Circulation* 93: 85-90, 1996). Derartige Dosierungen können als Tabletten oder Dragees verabfolgt werden, jedoch ist ihre Anzahl bei der beabsichtigten Dosierung inakzeptabel hoch. Es ist bekannt, daß die Compliance abnimmt, wenn die einzunehmende Anzahl von Tabletten steigt. L-Arginine ist wasserlöslich, jedoch nur bis zu 15% bei 21°C (The Merck Index, 10th Edition, Merck Inc., New York 1983, S. 113). Diese begrenzte Löslichkeit im Wasser würde eine orale Darreichungsform von sehr hohem Volumen erzwingen.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, L-Arginin als Arzneistoff bzw. pharmazeutischen Wirkstoff in ausreichend hoher Dosierung in einem Volumen von einigen Millilitern in geschmacklich ansprechender Zubereitung herzustellen, die einer Tagesdosis entspricht.

Das der Erfindung zugrunde liegende Problem wird gelöst durch ein Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 1. Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht die Herstellung einer Formulierung gemäß Patentanspruch 7. Verwendungen der Formulierung sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung einer Formulierung enthaltend Arginin kann grundsätzlich auch von dessen gesundheitlich unbedenklichen Salzen ausgegangen werden. Ebenfalls geeignet sind Prodrugs des Arginins, die im Stoffwechsel zu Arginin und dessen physiologisch wirksamen Stoffen weiterverarbeitet werden. So wird beispielsweise als Prodrug im Sinne der Erfindung ein Peptid verstanden, welches bei peptidolytischer Spaltung Arginin freisetzt. Auch Verbindungen wie Argininaspartat sind in diesem Sinne als Prodrug aufzufassen, weil Aspartat zu Arginin verstoffwechselt wird.

Als Arginin-Derivat kommt insbesondere L-Arginin in Frage. Das Arginin kann als Hydrochlorid, Aspartat, Glutamat, Pyroglutamat oder in Form anderer Salze vorliegen. Auch Derivate wie Amide, Ester oder N-modifiziertes Arginin kommen in Frage.

Erfindungsgemäß wird Arginin in der oben beschriebenen Form mit einem oder mehreren Zuckern, vorzugsweise aus der Klasse der Monosaccharide, in einer Lösung erhitzt. Als Monosaccharide kommen insbesondere Fructose und Glucose in Betracht.

Die Lösung wird so lange bei erhöhter Temperatur behandelt, bis sich eine leichte Gelbfärbung einstellt. Die Gelbfärbung kann mittels spektrophotometrischer Verfahren beobachtet werden. Bei einer Lösung von 50 Gew.-% Arginin HCl, 20 Gew.-% Fructose, in einer Verdünnung von

1:3, beträgt die optische Dichte typischerweise etwa 0,01-0,15 OD bei einer Wellenlänge von 400 nm.

Es ist dabei von besonderer Wichtigkeit, daß eine Gelbfärbung eintritt, da bei Farblosigkeit der Lösung nach Erwärmung eine Auskristallisierung des Arginins erfolgt. Nach Eintreten der Gelbfärbung wird die Lösung abgekühlt und kann gegebenenfalls abgefüllt werden. Es können sich übliche pharmazeutisch-technische Abfüll- oder Reinigungsschritte anschließen, die zu der Herstellung eines verkaufsfähigen Produktes erforderlich sind.

Vorzugsweise wird die Lösung, welche die Komponenten Arginin oder dessen Salze, Zucker und Wasser enthält, bis zum Sieden erhitzt. Nach einiger Zeit kann die Lösung aufschäumen. Man läßt insbesondere einen Zeitraum von mehreren Minuten verstreichen, bis sich die besagte Gelbfärbung einstellt. Danach wird, wie bereits ausgeführt, die Lösung abgekühlt.

Überraschenderweise fällt beim Abkühlen keine der Ausgangssubstanzen in fester Form mehr aus. Ein Chromatogramm zeigt, daß die Komponenten im wesentlichen keine chemische Reaktion eingegangen sind. Das Arginin ist nach wie vor neben dem Zucker die Hauptkomponente. Die Figur zeigt diesen Zusammenhang in einem Chromatogramm.

Vorzugsweise werden 30 Gewichtsteile Wasser, 10 bis 80 Gewichtsteile Arginin in Form seines Hydrochlorides oder anderen pharmazeutisch akzeptablen Salzen oder entsprechende Mengen einer Prodrug, insbesondere bevorzugt 10 bis 60 Gewichtsteile, und 20 bis 80, insbesondere 20 bis 60 Gewichtsteile Fructose und/oder Glucose eingesetzt. Die Menge des Wassers ist insoweit nicht kritisch, als daß Wasser zur Einstellung der gewünschten Viskosität der Lösung vorzugsweise verwendet wird. Wird wenig Wasser eingesetzt, erhält man eine sehr viskose bis honigartig erstarrte Masse.

Die erfindungsgemäßen Formulierungen zeichnen sich dadurch aus, daß sie das Arginin dauerhaft und stabil in Lösung zu halten vermögen.

Es ist dabei unerheblich, ob zunächst das Wasser erwärmt wird und die weiteren Bestandteile nachträglich zugegeben werden oder jeweils eine feste Komponente in der Lösung vorgelegt und die zweite Komponente nachträglich zugegeben wird und dann das Gemisch erhitzt wird, oder aber daß bereits in eine Lösung einer Komponente, die beispielsweise bis zum Sieden erhitzt wurde, dann eine Lösung der anderen Komponente zugegeben wird oder diese sogar in fester Form hinzugegeben wird, sofern die üblichen Vorsichtsmaßnahmen hinsichtlich drohender Siedeverzüge etc. beachtet werden.

Die durch das erfindungsgemäße Verfahren erhältliche Formulierung enthält Arginin überraschenderweise dauerhaft in Lösung, ohne daß es zu einer Rekristallisation des an sich in diesen Mengen schwerer löslichen Bestandteiles kommt. Daher ist die erfindungsgemäße Formulierung in hervorragender Weise zur Verwendung als Arzneimittel geeignet. Aufgrund der hohen Dosierung des Arginins kann ein damit zu behandelnder Patient durch einfache Einnahme mit der wirksamen Substanz Arginin versorgt werden.

Die erfindungsgemäße Formulierung ist geeignet zur Behandlung von peripheren arteriellen Verschlusskrankheiten, ischämischer Herzkrankheit, cerebraler Durchblutungsstörungen mit oder ohne Tinnitus, Morbus Raynaud oder Raynaud Syndrom, Impotentia coeundi, bei Transplantationen und anderen Erkrankungen oder Erkrankungserscheinungen, die mit unzureichender Synthese von Stickstoffmonoxyd im Zusammenhang stehen.

Beispiel

20 g Fructose oder Glucose werden in 30 ml konserviertem Wasser unter Sieden gelöst. In die klare Lösung trägt man 50 g Arginin-HCl vorsichtig unter Umrühren ein und erhält das Sieden ca. 5 Min. Die Temperatur steigt dabei auf ca. 105°C an, während die Lösung kurz aufschäumt und sich gelblich verfärbt. Die Lösung wird schnell abgekühlt, da sich die Verfärbung bei weiterem Erhitzen vertieft.

Nach dem Erkalten wird zu 100 ml mit konserviertem Wasser aufgefüllt.

Vergleichsbeispiel

20 g Saccharose oder Sorbit werden in 30 ml konserviertem Wasser unter Sieden gelöst. In die klare Lösung trägt man 50 g Arginin-HCl vorsichtig unter Umrühren ein und erhält das Sieden ca. 5 Min. Die Temperatur steigt dabei auf ca. 105°C an während die Lösung kurz aufschäumt und sich klärt. Nach dem Erkalten wird zu 100 ml mit konserviertem Wasser aufgefüllt. Nach dem Abkühlen bilden sich nadel-förmige Kristalle.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer Formulierung enthaltend Arginin, gesundheitlich unbedenkliche Salze des Arginins oder Prodrugs des Arginins und dessen unbedenkliche Salze, dadurch gekennzeichnet, daß eine Lösung von Arginin, gesundheitlich unbedenklichen Salzen des Arginins oder Prodrugs des Arginins und dessen unbedenkliche Salze und einem oder mehreren Zuckern solange erhöhter Temperatur ausgesetzt wird, bis sich eine leichte Gelbfärbung einstellt, wonach die Lösung abgekühlt und ggf. aufgefüllt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Lösung zum Sieden erhitzt wird und nach einem Aufschäumen der Lösung solange unter Sieden weiter erhitzt wird, bis sich die Gelbfärbung einstellt.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der oder die Zucker zur Gruppe der Monosaccharide gehören.
4. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Zucker Glucose und/oder Fructose verwendet werden.
5. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Lösung eine wäßrige Lösung ist, 10 bis 80 g Arginin in Form seines Hydrochlorides oder eine entsprechende Argininmenge in Form anderer Salze oder Prodrugs und 20 bis 60 g Fructose und/oder Glucose in 100 ml Lösung enthält.
6. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Lösung vor dem Erhitzen bereits die Komponenten Arginin und/oder Monosaccharid enthält oder die Komponenten erst nach dem Erhitzen in das Wasser gegeben werden.
7. Formulierung erhältlich nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
8. Verwendung der Formulierung nach Anspruch 7 als Arzneimittel.
9. Verwendung der Formulierung nach Anspruch 7 zur Behandlung von peripheren arteriellen Verschlusskrankheiten, ischämischer Herzkrankheit, cerebraler Durchblutungsstörungen mit oder ohne Minitus, Morbus Raynaud oder Raynaud Syndrom, Impotentia co-

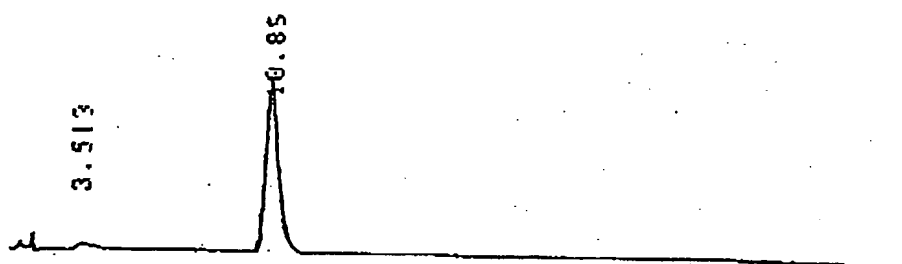
cundi, bei Transplantationen und anderen Erkrankungen oder Erkrankungserscheinungen, die mit der Synthese von Stickstoffmonoxyd im Zusammenhang stehen.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

Fig.

HPLC-Chromatogram von L-Arginin/Standard (100 μ M) und L-Arginin (100 μ M) aus einer Zubereitung entsprechend Beispiel 1. Detektion bei 205 nm. Fließmittel 90 % H₂O, 10 % Acetonitril, 10 mM KH₂PO₄, 10 mM 1-Octan-Sulfonsäure, pH 2.0.

L-Arginin/Standard



L-Arginin/aus
Fructose-Lösung

